

Micropropagación del pistacho: pros y contras

A. Arbeloa, E. García, M.P. Lorente, P. Andreu, J.A. Marín

Estación Experimental de Aula Dei – CSIC. Zaragoza

Resumen

El cultivo del pistacho se enfrenta a problemas que limitan grandemente su expansión: la propagación de patrones heterogéneos mediante plantas de semillas que pueden escasear, o de variedades mediante injertos con un éxito irregular. El resultado es la falta de planta disponible y su encarecimiento. Las técnicas de micropropagación que desarrollamos en nuestro laboratorio de la Estación Experimental de Aula Dei contribuyen a paliar estos problemas con la producción de patrones clonales selectos, sanos y uniformes, que potencialmente pueden proporcionar una cantidad ilimitada de plantas por la multiplicación masiva. Además, con el cultivo in vitro de variedades podemos injertar directamente los ápices sobre patrones juveniles, permitiendo una producción más rápida de los plantones. La discusión de las ventajas y los inconvenientes justifica claramente la utilización de la micropropagación.

Micropropagation of pistachio: pros and cons

A. Arbeloa, E. García, M.P. Lorente, J.A. Marín

Estación Experimental de Aula Dei – CSIC. Zaragoza

Abstract

Pistachio culture faces problems that greatly limit its expansion: the propagation of both heterogeneous rootstocks through seedlings that may be scarce, or of varieties through grafts with irregular success. The result is short plant availability and price raise. The micropropagation techniques that we develop in our laboratory at the Aula Dei Experimental Station contribute to alleviate these problems with the production of select, healthy and uniform clonal rootstocks, which can potentially provide an unlimited number of plants by massive multiplication. In addition, in vitro culture of varieties allow direct grafting of apices on juvenile rootstocks, and a faster production of pistachio plant trees. The discussion of the pros and cons clearly justifies the use of micropropagation.

Palabras clave: Cultivo in vitro, clonal, patrones, variedades, microinjerto

Key words: In vitro Culture, clonal, rootstocks, varieties, micrografting

La propagación vegetativa de árboles frutales está siendo utilizada desde antiguo por las indudables ventajas que ofrece al mantener la identidad genética de los clones seleccionados. Mientras las variedades se propagan mediante injerto sobre patrones adecuados, los patrones frutales deben autoenraizarse para servir como portainjertos de las variedades a propagar. Pero la capacidad natural para el autoenraizamiento está restringida a pocos casos, que fueron ampliados gracias a la aplicación de hormonas vegetales. Aún así, muchos patrones frutales muestran baja capacidad de enraizamiento o se muestran recalcitrantes y eso limitaba la clonación de patrones de interés. Este es el caso de los patrones de pistacho que no han podido ser propagados por estacilla y son, generalmente propagados por semilla, generando unas descendencias no uniformes y con diferencias en su comportamiento agronómico.

Por estas razones, la micropropagación, con la aplicación de técnicas de cultivo in vitro en condiciones asépticas (*Figura 1*), aporta ventajas innegables. La micropropagación vence las limitaciones de la falta de competencia para la regeneración de raíces, además de por la aplicación de hormonas vegetales o reguladores de crecimiento, por la totipotencia de determinadas células presentes en algunos tejidos y que en estas condiciones pueden dar lugar a nuevos órganos. Pero las técnicas de cultivo in vitro tienen numerosas aplicaciones, además de la micropropagación, y son unas herramientas fundamentales para el avance de la mejora genética y la biotecnología. De las 23 aplicaciones del cultivo in vitro que Winkelmann y colaboradores identificaban (WINKELMANN *et al.*, 2006), resaltamos dos que dan comienzo y final a su lista: la propagación masiva de plantas y la evaluación de la calidad de las plantas propagadas. Esta última aplicación se ha vuelto fundamental para evitar la diseminación de enfermedades y anomalías.



Figura 1- Patrón de pistacho UCB1 (*Pistacia atlantica* x *P. integerrima*) micropropagado en nuestro laboratorio de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC.

Existe, en la actualidad, una gran demanda de planta de pistacho por el interés creciente de este cultivo. Esta demanda no puede ser satisfecha por el sector viverista por diferentes razones, tanto relacionadas con los portainjertos, como con las variedades. Por una parte, las semillas de los patrones, que se obtienen bien de parentales seleccionados o en poblaciones naturales, han escaseado por la gran demanda recibida. Además, la disponibilidad de planta se retrasa ya que los patrones necesitan un periodo más o menos largo hasta alcanzar el calibre necesario para ser injertados con las yemas de las variedades, este periodo en patrones de crecimiento lento, como el patrón cornicabra, puede demorarse hasta dos años. Por otra parte, hay una incertidumbre en el éxito del injerto, que es variable y origina que se precisen hasta tres injertadas antes de obtener un buen prendimiento. A esto hay que añadir la escasez de yemas de las variedades a injertar, ya que el suministro que habitualmente realizaba el Centro de Investigación Agroambiental El Chaparrillo, de la Junta de Catilla y León, ya presenta limitaciones al aumentar la demanda desproporcionadamente.

En los últimos cinco años la superficie de cultivo en España ha pasado, según los datos del MAPAMA, de 3.629 hectáreas en 2013 a 15.847 ha en 2017. Una estimación conservadora de la cantidad de planta necesaria cada año para cubrir la superficie plantada, suponiendo un marco de plantación de 7 x 6 m, muestra un aumento exponencial, aunque da muestras de ralentización, a pesar de la demanda, en el último año en el que se estima una necesidad de más de 1,2 millones de plantas en 2017 (*Figura 2*). El reto de proporcionar la planta necesaria para cubrir la incesante demanda hace de la micropropagación una herramienta muy valiosa. No solo como la técnica de propagación de patrones potencialmente ilimitada, sino como medio para injertar (microinjertar) las variedades micropropagadas en patrones adecuados de tamaño reducido. En condiciones técnicamente exigentes y muy controladas, este injerto asegura un mayor prendimiento y una gran flexibilidad en el manejo y gestión de la planta. Estas técnicas han sido desarrolladas por nuestro equipo “Biología del Desarrollo y Material Vegetal en Frutales” en la Estación Experimental de Aula Dei, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), y están siendo aplicadas por las empresas viveristas con las correspondientes licencias y soporte técnico.

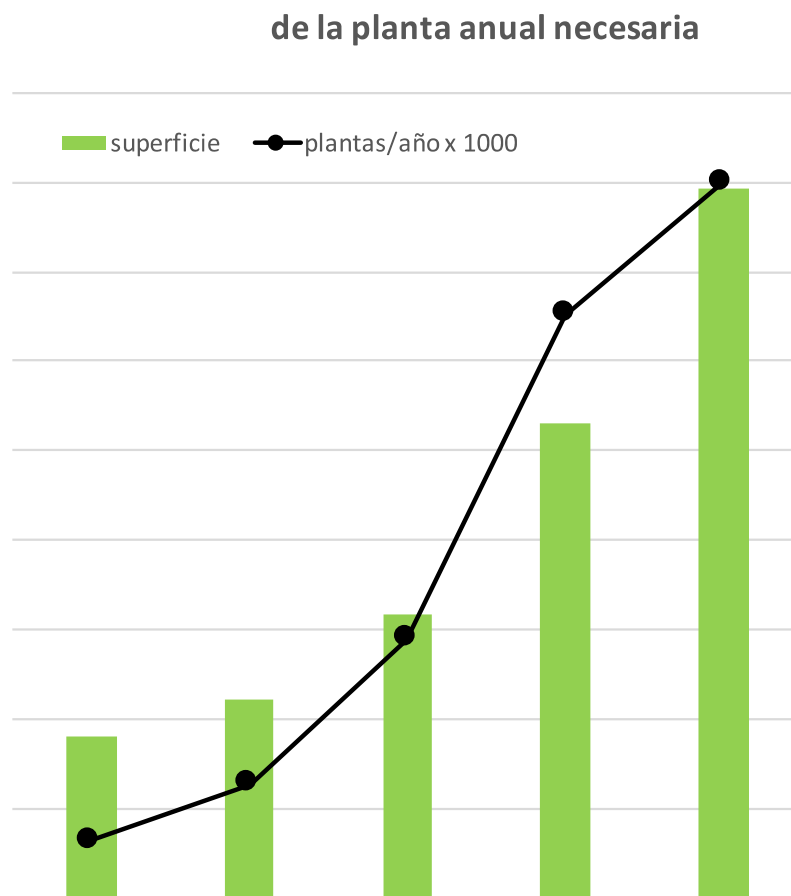


Figura 2. Evolución de la superficie de cultivo de pistacho en España (ha) en los últimos 5 años según el MAPAMA y estimación de las plantas necesarias cada año según un marco de plantación de 7 x 6 m (en miles de plantas)

Micropropagación de Pistacho

En el mundo se utilizan mas de 10 especies del género *Pistacia* como patrones para las variedades de pistacho cultivadas y según las diferentes regiones de cultivo del mundo se emplean preferentemente unas u otras especies, dependiendo de su adaptación a las condiciones de cultivo o al cultivo tradicional de la zona. Así, en las dos zonas principales de cultivo los patrones son diferentes: en Irán se usa principalmente *P. vera*, *P. mutica* o *P. kinjuk* y en California *P. atlantica*, *P. integerrima* y *P. atlantica x P. integerrima* (UCB1). En España, las especies que se utilizan principalmente como portainjertos son *P. terebinthus*, *P. atlantica* y actualmente el híbrido UCB1.

El pistacho cornicabra (*P. terebinthus*) se encuentra silvestre en toda la península y zona mediterránea indicando que es una especie rústica y adaptada a nuestras condiciones edáficas y climatológicas, desarrollándose bien en suelos poco profundos de secano y zonas marginales, aunque es sensible al hongo de suelo *Verticillium*. El portainjertos *P. atlantica* se encuentra creciendo de manera natural en Canarias y

Norte de África. Es también susceptible a *Verticillium* y destaca por su resistencia a salinidad y su vigor. Por otra parte, la principal característica del híbrido UCB1, desarrollado en California, es su tolerancia a *Verticillium* así como su gran vigor.

A la hora de realizar una nueva plantación en España, conviene determinar muy bien las características edafoclimáticas de nuestra parcela y acudir a los expertos para hacer la elección del portainjerto a plantar

La propagación de patrones de pistacho

La propagación de las especies de *Pistacia*, usadas como patrones, se realiza tradicionalmente por semilla ya que la propagación clonal por estaquillado no funciona adecuadamente para estas especies leñosas, como se ha indicado anteriormente.

La propagación por semillas es sencilla y barata y únicamente exige una limpieza de las mismas, así como su estratificación en frío y posterior siembra. Sin embargo, las plantas producidas a partir de semillas son plantas heterogéneas y esta variabilidad debe tenerse en cuenta a la hora de producir planta de semilla y eliminar la planta que no dé los estándares de vigor o comportamiento requeridos.

Una alternativa para la obtención de material clonal en especies de pistacho es la propagación in vitro. En la Estación Experimental de Aula Dei se están desarrollando con éxito técnicas de micropropagación de especies de pistachero: *P. vera*, *P. terebinthus*, *P. atlantica*, *P. integerrima* y *P. atlantica* x *P. integerrima*. Estos protocolos están permitiendo la obtención de planta de forma masiva y la multiplicación de individuos seleccionados.

El desarrollo de un protocolo para la multiplicación in vitro es un trabajo muy costoso e incluye varias fases (*Figura 3*), todas ellas importantes, que deben experimentarse y optimizar para llegar al éxito en la multiplicación del material vegetal.

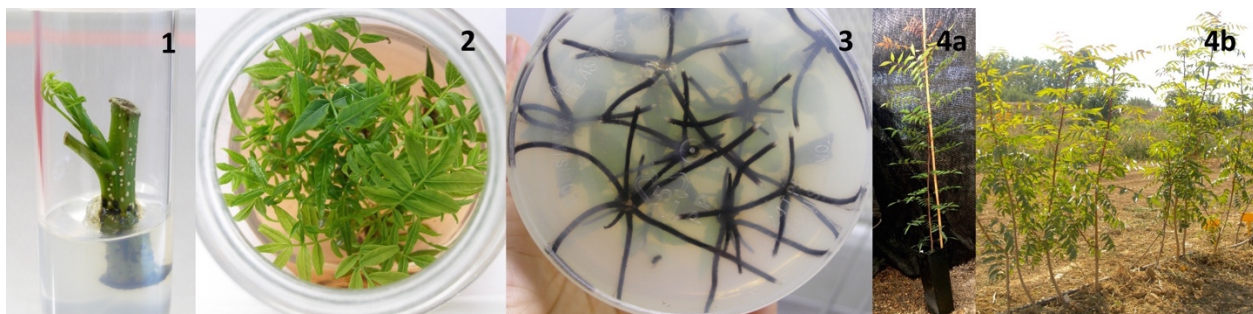


Figura 3. Fases en la micropropagación del patrón UCB1: 1. establecimiento del cultivo; 2. multiplicación; 3. enraizamiento y 4a. aclimatación y 4b. trasplante a vivero

1. Establecimiento del cultivo in vitro

El establecimiento de estas especies se ha realizado mediante: a) el cultivo de microestaquillas con una yema lateral, recogidas en campo en fase de crecimiento durante la primavera a partir de árboles adultos; b) microestaquillas provenientes de plántulas de semilla creciendo en maceta; o bien c) la germinación in vitro de semillas. En todos los casos de establecimiento in vitro, uno de los principales problemas es la contaminación, pero en el caso del pistacho presenta un limitante añadido que es la elevada producción de exudados fenólicos al medio de cultivo que impide el desarrollo de los brotes.

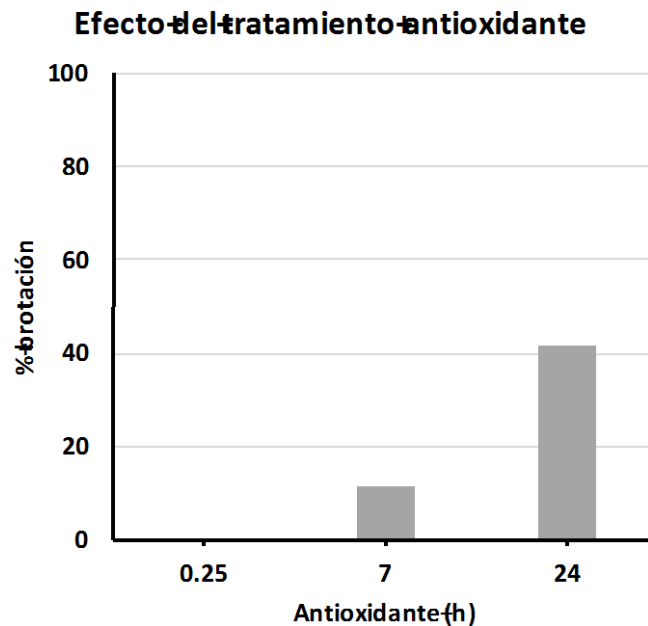


Figura 4. Efecto de un tratamiento antioxidante prolongado en el establecimiento in vitro de la variedad C-Especial a partir de microestaquillas

Este efecto puede ser superado gracias a la aplicación prolongada de antioxidantes tanto en la recogida del material como en el medio de cultivo de establecimiento. La Figura 4 muestra como la ampliación del tratamiento con antioxidantes de 7 a 24 h aumentó el porcentaje de cultivos en crecimiento (MARÍN *et al.*, 2016).

La germinación in vitro de semillas se realizó a partir de semilla limpia y sin tegumentos. La germinación dependió del medio utilizado, pero se obtuvieron porcentajes de éxito de hasta el 100% (Figura 5).



Figura 5. Semilla de *P. atlantica* germinada in vitro en condiciones asépticas

2. Multiplicación de los explantos iniciales

Una vez establecido el cultivo este debe multiplicarse en el medio de cultivo para su propagación. Los medios de cultivo deben adaptarse a cada una de las especies y clones multiplicados para lo cual deben evaluarse. En el caso del pistacho, la evaluación de los medios de cultivo se realiza no solo con respecto a la tasa de multiplicación que inducen sino también respecto a la presencia de brotes con ápices necrosados, que son frecuentes. En pistacho la elevada tasa de necrosis apical puede limitar su cultivo in vitro por lo que la determinación de un medio de cultivo adecuado es de gran interés.

CUADRO 1. Comparación de diferentes medios de cultivo en la fase de multiplicación de *P. terebinthus* (valores medios \pm s.e.m.; letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas; *, ***, n.s.: $P < 0.05$, $P < 0.001$, no significativo, respectivamente; N: tamaño de la muestra)

MEDIO DE CULTIVO	N	LONGITUD DEL BROTE (mm)	NÚMERO DE ENTRENUDOS	TASA DE MULTIPLICACIÓN	NECROSIS APICAL (%)
DKW	30	30.9 \pm 3.25a	6.1 \pm 0.36a	1.8 \pm 0.13	10.0b
MS	30	19.8 \pm 1.45b	4.9 \pm 0.28b	1.8 \pm 0.19	36.7a
WP	30	20.5 \pm 1.48b	4.1 \pm 0.28b	1.9 \pm 0.15	26.7ab
		***	***	n.s.	*

En *P. terebinthus* la tasa de multiplicación fue similar en los tres medios de cultivo estudiados (*Cuadro 1*): MS (MURASHIGE y SKOOG ,1962), WP (LLOYD y MCCOWN, 1981) y DKW (DRIVER y KUNYUKI, 1984). El menor porcentaje de brotes necrosados nos indicó, sin embargo, una mejor adaptación del cultivo al medio DKW (GARCÍA *et al.*, 2012).

En el híbrido UCB1 y en *P. atlantica*, los distintos clones se comportaron de manera diferente en los distintos medios de cultivo estudiados si tenemos en cuenta ambos factores.

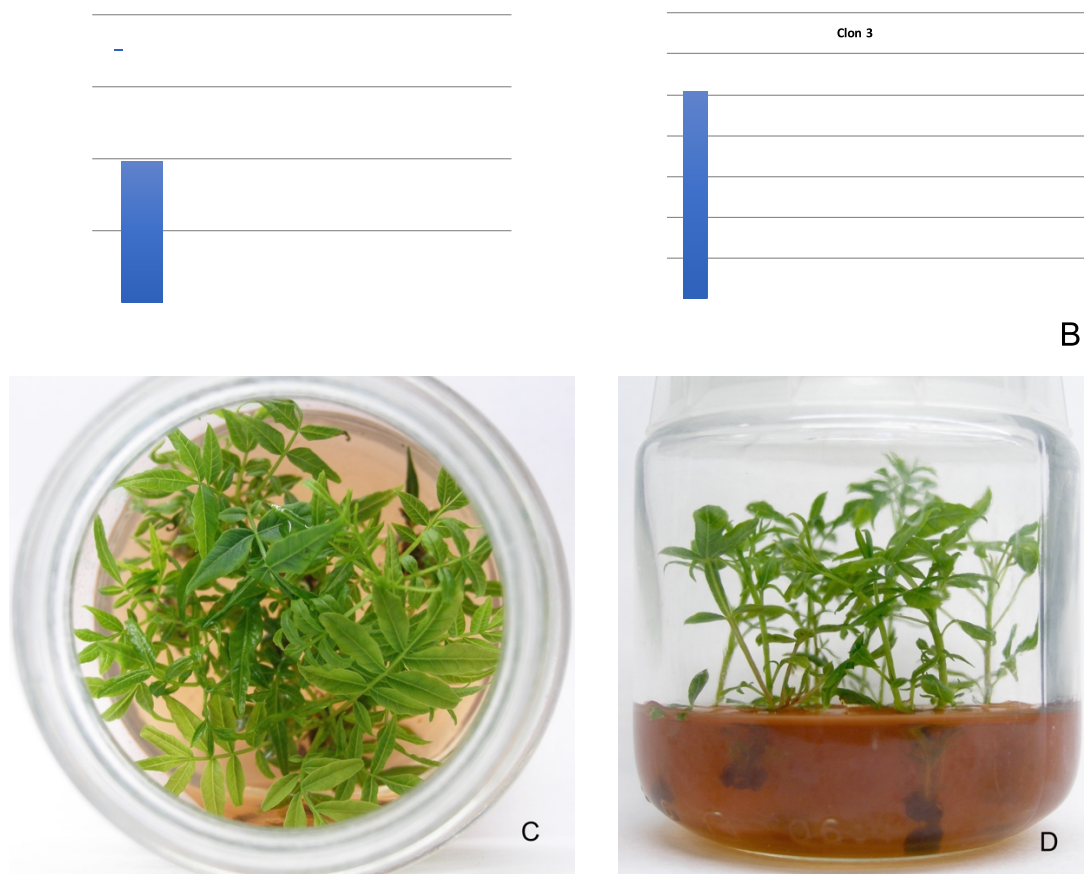


Figura 6. Multiplicación in vitro de los patrones UCB1 (A,C) y *P. atlantica* (B,D)

Los medios de cultivo desarrollados para estas especies (A, B, C ó D) son modificaciones del medio DKW para mejorar el cultivo. Con los medios estudiados se han logrado tasas de multiplicación variables entre 1 y 3 mostrando diferencias entre clones aún dentro de una misma especie. La presencia de brotes necrosados fue muy

variable dependiendo de los medios de cultivo y el clon, aunque en algunos casos se ha logrado una incidencia inferior al 5% de los brotes. No hay un medio único que se adapte mejor a todos los clones sino que para cada uno de los clones estudiados o futuros habrá que adaptar su medio de cultivo en orden a conseguir la máxima multiplicación de brotes útiles (*Figura 6*).

Una vez establecido el cultivo aséptico es muy conveniente realizar una evaluación de la calidad del planta en multiplicación y de la presencia de contaminantes endógenos, que pueden estar latentes y no ser observados hasta mucho tiempo después. En esta evaluación se determinará la ausencia de anomalías morfológicas y fisiológicas, como las fasciaciones o el albinismo y se realizará un test de presencia bacteriana en los brotes cultivados mediante siembras en medios enriquecidos. En nuestro laboratorio, tras un periodo de incubación de varios días, la aparición o ausencia de colonias nos indica su presencia en los cultivos (*Figura 7*).

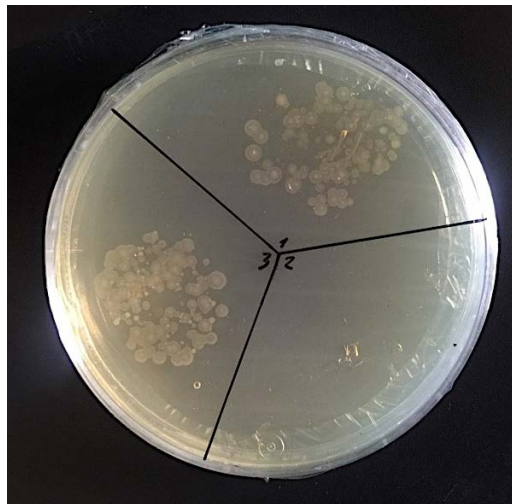


Figura 7. Test de presencia de bacterias en un medio enriquecido tras la siembra a partir de cultivos de pistacho in vitro. Crecimientos bacterianos positivos formando colonias en 1 y 3 y negativo en 2

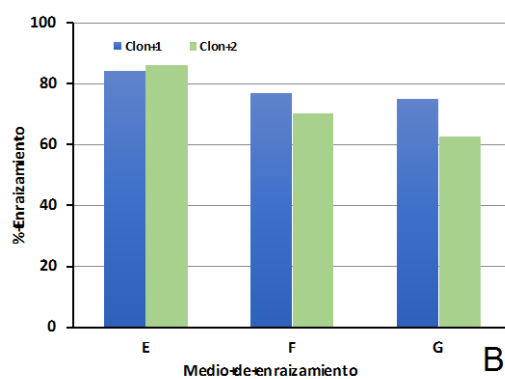
3. Enraizamiento

La tercera fase para la obtención de planta micropropagada es el enraizamiento de los brotes. Para la obtención de un enraizamiento eficaz, cercano al 100% de los brotes, se probaron tres medios de cultivo diferentes (E, F ó G) obteniéndose los mejores resultados, para todos los clones estudiados, en el medio de cultivo basado una modificación del medio de LONG y PREECE (LONG *et al.*, 1995) donde se alcanzó un porcentaje de enraizamiento cercano al 80% de los brotes como media (*Figura 8*).



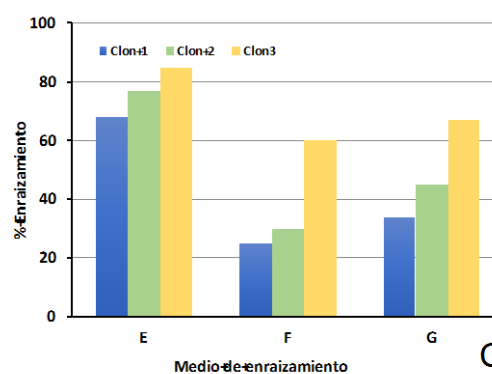
A

Enraizamiento de UCB1



B

Enraizamiento de *P. atlantica*



C

Figura 8. Enraizamiento de UCB1 (A,B) y *P. atlantica* (C) en distintos medios de enraizamiento

4. Aclimatación

Posteriormente los brotes enraizados deben pasar a la fase de aclimatación y endurecimiento de la planta tras su trasplante a sustrato. En esta fase se obtuvieron éxitos cercanos al 100% con las condiciones adecuadas y controladas de humedad y temperatura (*Figura 9*). Siendo un cultivo que no da muestras de marchitez durante la aclimatación, los tiempos de estrés deberán determinarse para cada clon.

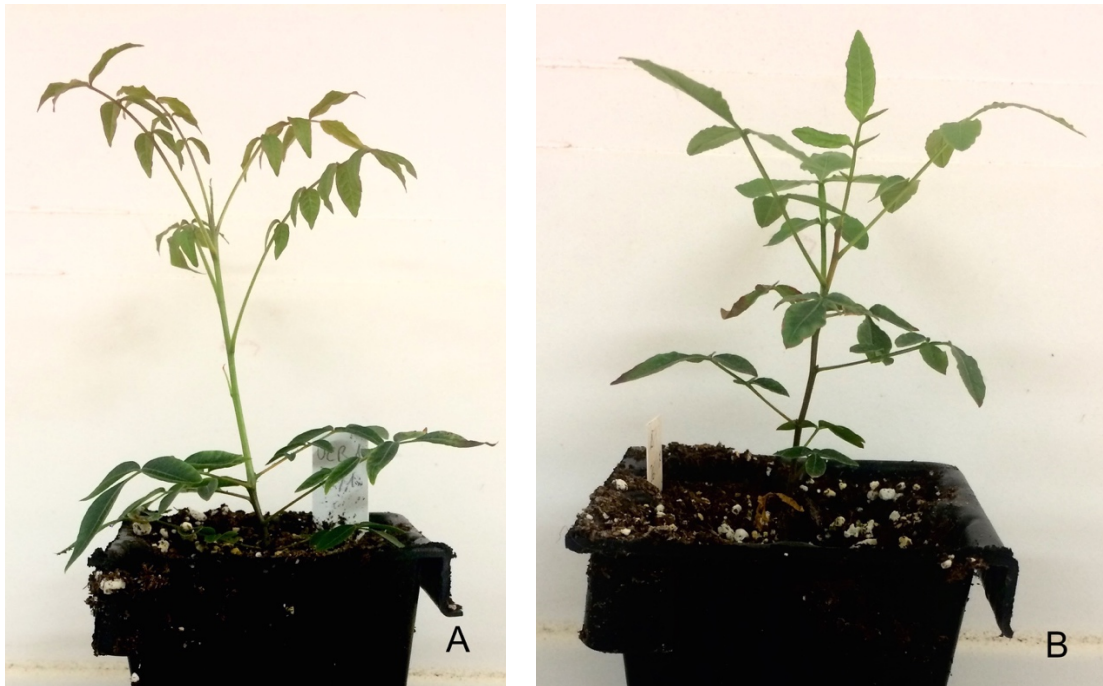


Figura 9. Plantas micropropagadas tras 2 meses de la aclimatación: UCB1 (A) y *P. atlantica* (B)

Mediante el desarrollo de protocolos adaptados para los distintos clones estudiados hemos conseguido una propagación masiva y clonal de distintos patrones del género *Pistacia*.

Propagación de variedades de pistacho

Las variedades de las especies frutales, como el pistacho, se propagan injertando yemas vegetativas en patrones adecuados, de manera que la variedad, al desarrollarse, forma la parte aérea del árbol, mientras el patrón forma el sistema radical. Pero en pistacho el injerto tiene una limitación derivada del gran tamaño de las yemas, haciendo que el diámetro del tronco del portainjerto sea muy importante a la hora de injertar. No podemos injertar una yema de una variedad, que es muy gruesa, sobre un portainjertos de apenas unos milímetros de grosor, como el que tienen las plantas jóvenes provenientes de semillas. Esto obliga a esperar a tener patrones incluso de 2 savias antes de injertar, con la pérdida económica que esto supone. Éste, junto con el bajo prendimiento del injerto que sucede algunos años, es uno de los motivos del encarecimiento de las plantas. El éxito del injerto en pistacho, tanto en vivero como en campo, es incierto y difícilmente predecible y puede oscilar

entre un 30 y un 90 % y las causas se achacan a una gran cantidad de factores fisiológicos y ambientales que suceden durante el injerto y las etapas posteriores.

Para poder tener más control y precocidad en el injerto, en la Estación Experimental de Aula Dei hemos desarrollado con éxito un método que nos permite injertar un patrón de semilla recién germinado con un diámetro de 2-3 mm, con yemas (ápices) de variedades micropropagadas y procedentes directamente del cultivo in vitro, que poseen un diámetro muy similar al patrón, ya que durante el cultivo in vitro el tamaño de las plantas disminuye notablemente (*Figura 10*). De esta manera podemos controlar las condiciones ambientales y elegir los individuos con un estado fisiológico óptimo.

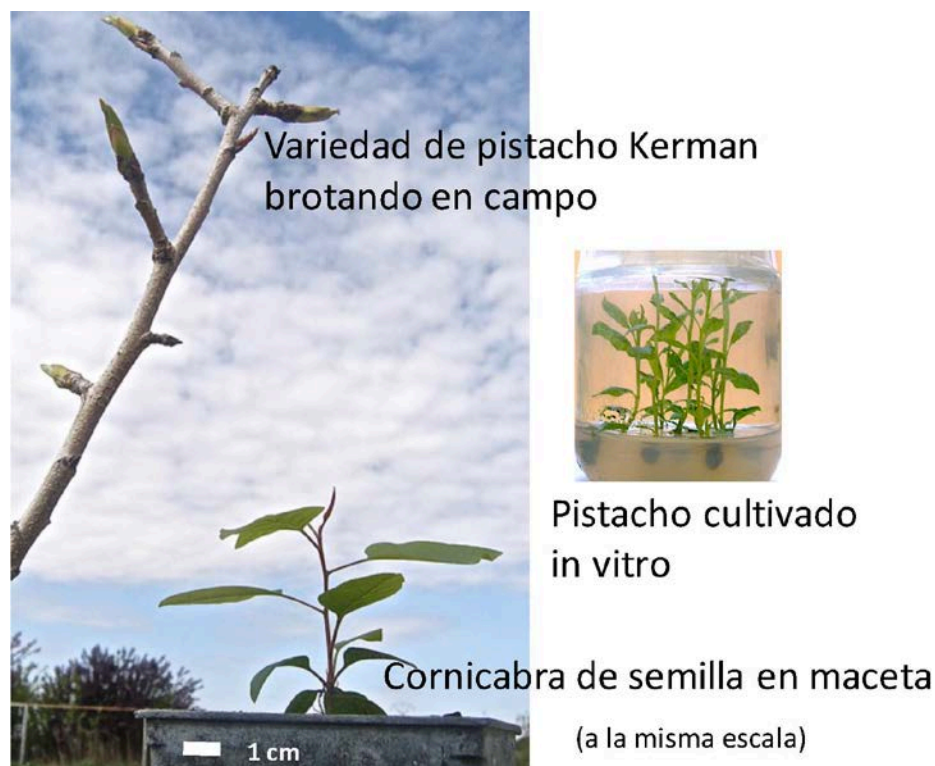


Figura 10. Comparación del tamaño de yemas de la variedad Kerman, en campo o en cultivo in vitro, con patrones de cornicabra recién germinados

La micropropagación de las variedades de pistacho sigue un proceso similar al de los patrones descrito anteriormente, partiendo de microestaquillas con yemas axilares tomadas de plantas madre de las variedades seleccionadas (GARCÍA *et al.*, 2017; MARÍN *et al.*, 2016). Actualmente estamos trabajando con 6 variedades: Kerman, Larnaka, Sirora y Mateur como hembras y Peters y Guerrero como machos. La unión se realiza mediante un injerto (microinjerto) de púa o hendidura y se obtiene una unión perfecta en un elevado porcentaje (superior al 70 %) cuando las condiciones ambientales y fisiológicas son las adecuadas (*Figura 11*). Como la variedad procede de cultivo in vitro necesita un periodo de adaptación o endurecimiento, que tiene lugar en un túnel de aclimatación. De esta forma, un injerto realizado en febrero, proporciona una planta terminada en contenedor en septiembre. Además, el

microinjerto permite una gestión flexible, ya que la producción de planta in vitro puede planificarse y no depender de las estaciones del año.



Figura 11. Pistacho 'Larnaka' a los tres meses del microinjerto de un ápice propagado in vitro sobre patrón cornicabra

Pros y contras de la micropropagación del pistacho

Hemos visto que la micropropagación ofrece nuevas posibilidades a la propagación clonal del pistacho. Sin embargo, como toda herramienta, junto a las ventajas se presentan unos aspectos adversos que analizamos en el *Cuadro 2*. A pesar de los aspectos adversos, la micropropagación del pistacho nos ofrece unas ventajas que superan sobradamente a sus desventajas y que han sido aplicadas anteriormente para la multiplicación de otros patrones frutales como el almendro, el melocotonero, el cerezo o el ciruelo. En estos casos, la micropropagación de patrones está ya implantada en los viveros.

Uno de los aspectos negativos es la posible aparición de mutaciones y cambios genéticos que son más frecuentes en especies inestables, como la platanera o la fresa. Sin embargo, en las plantas leñosas, como el pistacho, no hay referencias de estas variaciones y es muy difícil que se produzcan debido a su estabilidad genética. Sí que se ha descrito el efecto del cultivo in vitro sobre un alargamiento del periodo juvenil de la planta en otras especies frutales. Para evitar las posibles incidencias que se podrían extender por la multiplicación masiva de plantas, pero aprovechar las ventajas de la propagación clonal, existe una regulación que afecta a otras especies frutales y que se debe aplicar en los laboratorios comerciales, que limita el número de ciclos de cultivo que se pueden realizar a partir de un explanto inicial. De esta forma se minimiza el

riesgo de multiplicación y difusión de posibles alteraciones. Para seguir esta regulación el cultivo debería ser renovado cada año. Del mismo modo, existe una regulación para los métodos de propagación tradicionales, donde estas alteraciones también se pueden producir. Por otra parte, el manejo de la planta en contenedor, ya sea micropropagada o no, exige un tratamiento y tipo de contenedor especiales para evitar la indeseable espiralización de las raíces. Otro aspecto que puede complicar más la producción de planta es la necesidad de la aclimatación de las plantas producidas in vitro. Es importante tener en cuenta que las plantas in vitro crecen en condiciones heterótrofas, pero se deben volver autótrofas ex vitro, y ese proceso denominado aclimatación requiere cierto tiempo para adaptarse a las condiciones ambientales del invernadero. Al ser el último paso, debe ser considerado el más importante. Por otra parte, además de unas instalaciones especializadas y técnicamente avanzadas, es necesario dotar al laboratorio de micropropagación con personal técnicamente cualificado y formado, capaz de organizar y planificar los trabajos e identificar y resolver los problemas que vayan apareciendo y quizá éste sea el aspecto más difícil de solucionar.

En conjunto, la micropropagación de pistachos, siempre que se realicen los controles adecuados, producen plantas de calidad, abundantes y a un menor coste. Un indicador de que la micropropagación de pistachos se está implantando, como ha sido el caso de otras especies frutales, es la presencia actualmente de diferentes laboratorios que producen patrones UCB1 clonales y una tendencia al aumento del interés en la técnica.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el proyecto del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria-FEDER RTA2014-00056-C02 y por el Gobierno de Aragón Grupo Consolidado A43.

Referencias

- DRIVER J.A., KUNIYUKI A.H. (1984). In vitro propagation of paradox walnut rootstock. *HortScience* 19, 507–509.
- GARCÍA E., LORENTE P., MARÍN J.A., ANDREU P., ARBELOA A. (2011). Factores que afectan a la necrosis apical de brotes de *Pistacia vera* cultivados in vitro. *ITEA* 107, 315–323.
- GARCÍA E., IMBRODA I., LORENTE P., MARÍN J.A., ARBELOA A., PADILLA I.M.G., BARCELÓ A., ANDREU P. (2012). Micropropagation and in vitro grafting techniques to assist the selection of a pistachio rootstock from a population of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) collected in the SE of Spain. *Acta Horticulturae* 961, 245–252.
- LLOYD G., MCCOWN B. (1981). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings of the International Plant Propagation Society* 30, 421–427.
- LONG M.N., PREECE J.E., VAN SAMBEEK W. (1995). Adventitious regeneration of *Juglans nigra* L. (eastern black walnut) Lynn M. *Plant Cell Reports* 14, 799–803.

MARÍN J.A., GARCÍA E., LORENTE P., ANDREU P., ARBELOA A. (2016). A novel approach for propagation of recalcitrant pistachio cultivars that sidesteps rooting by ex vitro grafting of tissue cultured shoot tips. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 124, 191–200.

MARÍN J.A., GARCÍA E., LORENTE P., ARBELOA A., ANDREU P. (2017). Propagation of pistachio applying in vitro culture techniques. *Acta Horticulturae* 1155, 321–326.

MURASHIGE T., SKOOG F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15, 473–497.

WINKELMANN T., GEIER T., PREIL W. (2006). Commercial in vitro plant production in Germany in 1985–2004. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 86, 319–327.

CUADRO 2. Resumen de pros y contras de la micropropagación de pistacho

Contras	Pros
Homogeneidad	
<p><i>Mutaciones y cambios debidos al cultivo</i> En las plantas leñosas, como el pistacho, es improbable que aparezcan variaciones o mutaciones genéticas debido a su gran estabilidad genética.</p> <p><i>Disminución de la variabilidad genética</i> Al clonar un solo individuo eliminamos la variabilidad genética de una población, lo que limita sus posibilidades para adaptarse y hacer frente a los cambios, ya sean determinadas plagas, enfermedades o estreses abióticos. Pero, a pesar de la desventaja de la pérdida de diversidad, la propagación clonal permite disponer de individuos seleccionados por su comportamiento agronómico y por su tolerancia a estreses bióticos y abióticos.</p>	<p><i>Uniformidad</i> Con la micropropagación obtenemos planta uniforme, de tamaño y vigor similar. Lo que ofrece ventajas al viverista, ya que es muy conveniente la homogeneidad de la planta a injertar.</p> <p><i>Planta clonal</i> Obtenemos planta clonal, genéticamente idéntica. Lo que permite que la planta que estamos clonando posea las características de la planta madre seleccionada.</p> <p><i>Propagación de clones élite</i> Nos posibilita la selección y propagación de árboles cuyo comportamiento en campo ya podemos conocer, y que pueden poseer características deseables como la adaptación a suelos y climatología determinadas.</p> <p><i>Tamaño reducido</i> La planta micropropagada posee inicialmente un tamaño reducido que permite manejarla fácilmente en contenedores individuales, lo que supone una economía de espacio y una flexibilidad en la manipulación.</p>
Micropropagación	
<i>Instalaciones especializadas</i>	<i>Multipliación masiva</i>

<p>Para realizar la micropropagación debemos disponer de unas instalaciones especializadas para tener un laboratorio que sea competitivo, con una cámara de cultivo y unos invernaderos dimensionados adecuadamente para la cantidad de material vegetal que queramos obtener. Esto supone un coste económico importante que obliga a realizar estudios de viabilidad para un cultivo como el pistacho.</p> <p><i>Personal cualificado y formado</i> Junto a las instalaciones es preciso disponer de personal técnicamente cualificado y formado para organizar y planificar los trabajos, para cumplir objetivos de producción de planta en la fecha fijada e identificar y resolver los problemas que vayan apareciendo.</p> <p><i>Lenta fase inicial de los cultivos</i> La duración de la fase inicial de los cultivos es incierta y depende de la especie y del estado de la planta madre, origen de los explantos iniciales. En el caso del pistacho el período puede alargarse más de un año y es frecuente el fracaso en el inicio, que obliga a repetir todo el proceso, ya que es un cultivo particularmente difícil y exigente.</p> <p><i>Necesidad de la aclimatación de las plantas producidas in vitro</i> Las plantas micropropagadas presentan la necesidad de adaptación desde las condiciones del cultivo in vitro a las condiciones de campo. Este es un periodo crítico y puede ser un cuello de botella en el proceso. Además, podemos perder toda la inversión realizada hasta este punto.</p>	<p>Obtenemos una multiplicación rápida y masiva de plantas durante todo el año que solo está limitada por las características del laboratorio y su capacidad de producción.</p> <p><i>Reducción de costes</i> La producción masiva lleva a un abaratamiento de la planta. Dado el aumento de la demanda de planta de pistacho, cada vez hay más viveros que la producen y, entre éstos, hay un interés creciente por la micropropagación.</p> <p><i>Planificación</i> Se puede planificar la producción, ya que no se depende tanto de las estaciones , sino de los objetivos a cumplir.</p>
Estado sanitario	
<i>Difusión de enfermedades no detectadas</i>	<i>Planta sana</i>

<p>A pesar de que el cultivo in vitro se realiza en condiciones asépticas, la planta puede ser portadora de algún germen endógeno. Con las herramientas adecuadas es relativamente sencillo eliminar cualquier tipo de planta portadora de gérmenes. Sin embargo, si no se siguen una serie de protocolos, sería posible diseminar rápidamente una enfermedad. Para evitar serios problemas en el futuro es preciso disponer de controles periódicos de calidad de la planta producida y de su estado sanitario.</p>	<p>Se obtiene planta sana, sin plagas ni enfermedades, siempre y cuando partamos de planta sana y controlada y realicemos tests de presencia bacteriana, que son factibles con este tipo de cultivo. Pero no podemos pensar que por que una planta proceda del cultivo in vitro va a estar libre de bacterias o de virus.</p> <p><i>Exenta de cuarentenas</i> La actividad de un laboratorio de micropropagación y el movimiento de plantas micropropagadas están permitidas incluso en situaciones de cuarentena por la aparición de patógenos como por ejemplo <i>Xylella fastidiosa</i>.</p> <p><i>Facilidad de transporte transfronterizo</i> Debido a las condiciones controladas de producción y a su condición de cultivo aséptico.</p>
Microinjerto	
	<p><i>Disponibilidad de yemas para el microinjerto</i> La micropropagación de variedades de pistacho proporciona ápices para injertar en las cantidades necesarias para asegurar la propagación de pistachos, frente al agotamiento de las varetas de variedades a partir de plantas madre en los centros suministradores.</p> <p><i>Injertos durante todo el año</i> Al controlar las condiciones ambientales es posible realizar injertos independientemente de la estación.</p>